



TITLE:

Isolation of planarian neoblasts and their behavior in vitro with some aspects of the mechanism of the formation of regeneration blastema(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Betchaku, Teiichi

CITATION:

Betchaku, Teiichi. Isolation of planarian neoblasts and their behavior in vitro with some aspects of the mechanism of the formation of regeneration blastema. 京都大学, 1967, 理学博士

ISSUE DATE:

1967-03-23

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/212193>

RIGHT:

氏 名	別 役 禎 一 べっ ちゃく てい いち
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	論 理 博 第 192 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	Isolation of planarian neoblasts and their behavior <i>in vitro</i> with some aspects of the mechanism of the formation of regeneration blastema (培養下に於けるプラナリアのネオブラストの分離とその行動並びに再生芽の形成機構)
論文調査委員	(主 査) 教 授 市 川 衛 教 授 中 村 健 児 教 授 加 藤 幹 太

論 文 内 容 の 要 旨

プラナリアは切断面に再生芽を形成し、その分化によって失われた部分を修復する。この際の再生芽を形成する細胞起源については Dubois (1949) の唱えた幼細胞 (neoblast) 説がこれまで一般に信じられている。すなわち、体の柔組織細胞のあいだにまじって散在している未分化多能性の幼細胞が、切断刺激によって活性化されて傷口に移行し、そこに集積して再生芽を形成し、多能性を発揮して、いろいろの組織を形成するというのである。ところが、固定と染色の困難なためもあって、光顕では幼細胞そのものの定義さえまだはっきりしていない。ましてその移行性は細胞を追跡して決めたものではない。したがって、まず再生芽を形成する細胞の起源、その組織分化などを決めることが根本問題であるが、なかでも幼細胞の形態的特徴、その行動などを深く研究して、この細胞の特性をみいだすことが先決問題である。申請者の論文はこの根本問題を解決しようとしたものである。

申請者は研究方法として、培養条件下で幼細胞のみを集めることに成功し、この細胞の形態的特徴、行動などを生きたまま観察し、あるいは体から組織の一片を切り出して、これを塊として培養し、幼細胞と他の細胞との比較、ならびにそれらの細胞と共存する場合の幼細胞と各種細胞との行動の比較研究から、再生芽の形成に関して独自の見解を提起している。

材料は、米国インディアナ州産の *Dugesia dorotocephala* である。咽頭前域から組織小片をとり、24～48時間、pH 7.4、水温 17～18℃ で培養すると、この条件に敏感な筋細胞・各種腺細胞・排出器系細胞などは退化し、条件に対し比較的感受性の低い上皮細胞・消化管系細胞・幼細胞などが生き残って、それぞれ類をもって集まる。すなわち、消化管系細胞は組織片の外に移行して、中の幼細胞集塊と上皮細胞集塊とを被うようになる。この状態のものを取り出して別の培地で軽く振盪すると、消化管系細胞や上皮細胞はばらばらになって浮遊し、幼細胞だけが培養器底においたスライドガラスに接着する。これを洗うと幼細胞だけが集められる。

幼細胞は分離したときは一般に球形である。細胞質は非常に少なく好塩基性で、核には通常 1 個の仁が

あり、これまで先人のいう諸性質をもっている。これを位相差顕微鏡で観察し、また長期にわたる観察は16 mm シネマに撮影して、その行動を検討している。結果として判明したことは、球形の幼細胞は培養後間もなく一次突起を出し、これを盛んにゆり動かし、また伸び縮みをする。この突起は幼細胞に特異的に存在するもので、自己と同じ性質のものを識別し、突起同志がふれると接着し、収縮して細胞体を引き寄せるが、他の細胞にふれても離れる。この一次突起の性質が幼細胞移動の原動力であるという。したがって、移動範囲は狭い。従来考えられたような長距離移動は自動的には不可能であるし、他の細胞を飛び石として、移動することも出来ない。

一次突起とはほとんど同時、遅くとも2時間以内に幼細胞は一次突起の反対側に二次突起を出して、明瞭な二極細胞になる。この形が培養条件下では基本型であり、生体組織に混って存在するときにも、しばしばこの二極性を示すものが見られる。培養直後の球形こそ遊離状態におかれたための所産と考えられる。二次突起は短く、細胞体を細胞凝集内に固着するのに役立つようにみえるという。

柔組織細胞は条件に敏感で、いろいろの形をとるが、幼細胞より大きく、細胞質の多い細胞で、ことにPAS 陽性の物質や脂肪粒を含んでいる。この細胞は運動力が強く、アミーバ状運動を行ない、幼細胞の集塊の中をも幼細胞を押しわけて通り抜けることができる。つまり、幼細胞の一次突起による凝集力乃至親和力より、この細胞の移動力の方が強い。生体内で幼細胞の凝集を妨げているものは、この細胞であると申請者は考えている。

消化管系細胞は大きな柱状細胞で、空胞に富む。これをばらばらにほぐすと、強いアミーバ状運動をする。ことに他の細胞と共に組織片として生理食塩水中に置くと、組織集塊の外側に出て、上皮細胞のように一層にならぶ性質をもっている。

以上のような培養条件下における各種細胞の行動の比較から、申請者は再生芽の形成を検討し、次のようにいえるという。まず、生体内に比較的密に分布している幼細胞同志の集合を妨げている柔組織細胞が、傷口の水（低張液）にさらされて、細胞崩壊を起こし、幼細胞を遊離する。次に遊離された幼細胞は二極細胞となって細胞集塊を作る。一方、傷口付近の柔組織細胞や消化系細胞はアミーバ状運動によって、傷口の方へ移動する。この移動の際幼細胞を道ずれにして傷口に運ぶ。したがって、幼細胞のこの運動は Duvios らのいうように能動的なものでなく、全く受動的なものであるという。このようにして傷口にできた再生芽はあとから集まる幼細胞の追加と、そこにおける細胞の活発なる分裂によって成長すると主張している。

以上の記載からわかるように、再生芽の形成には幼細胞のほか、柔組織細胞や消化管系細胞が当然加わる。したがって、幼細胞が果して今まで信じられていたように多能性であるか、否か検討を要するとして、この問題は次の研究に残している。

参考論文5編は、いずれもプラナリアの研究である。その1は神経系を組織学的に染め別けることを可能にした努力的な作品であり、その2、その3は主論文の基礎となったものである。その4は培養中に現われるいわゆる“復元体 (restititional body)”について見解を述べたものであり、その5は分裂増殖をする際の分裂と神経索の関係を論じたものである。

論文審査の結果の要旨

動物の再生現象の研究において、もっとも基本的な問題は、再生芽を形成する細胞の起源とその発生能を追求する点にある。この問題は下等無脊椎動物、たとえば腔腸動物・環形動物・扁形動物などでは、体の各組織の間に自由で且つ万能性をもつ形態形成細胞・代償細胞・再生細胞・幼細胞などと呼ばれている細胞が温存されていて、これが傷口に自らの運動により移行すると一般に信じられている。申請者の論文は、扁形動物の一種プラナリア *Dugesia dorotocephala* を材料として、この問題を培養条件下において解明しようと試みたものであり、その結果は従来の自動能力を極めて低く評価し、別に全く新しい提言をなすとともに、自動能力説に厳しい批判を加えている。

幼細胞は培養条件下で遊離した場合、最初は球形で、細胞質の少ない細胞であるが、やがて1本の細長い一次突起を生じ、次いで二次突起を生じて、二極細胞となる。これが基本型である。この一次突起は幼細胞(neoblast)に特徴的なもので、揺動性と伸縮性を示し、かつ自己と同じ突起を識別する能力をもつ。したがって、この突起のゆれ動く範囲内に他の細胞の一次突起があると、それと接触し、接合し、互いに引き合って、ついに細胞本体を近づける。しかし、他種のたとえば消化管系細胞や上皮細胞などには、触れても接着しない。この特性のためにしだいに幼細胞だけからなる大きな細胞集塊をつくる。また、ある条件で組織片として培養を続けると、早いうちに条件に対して敏感な筋細胞・上皮色素細胞・各種腺細胞・排出系細胞などは退化し、比較的鈍感な上皮細胞・消化管系細胞・幼細胞などが生き残って、それぞれ、類をもって集まり、いわゆる sorting out を行なう。しかし、集塊をつくっている幼細胞同志の親和力はそれほど強いものでなく、移動力の強い柔組織細胞はその中にわけ入り、また容易に通る抜ける。このように培養条件下における各種細胞の行動を克明に観察した結果から、幼細胞に強力な移動性をもたせる従来の再生芽形成に関する説はどうしても受け入れがたいという。その上この説を信奉するフランスの研究者等がその著書にしばしば引用する幼細胞の移動方向を示す図は、培養条件下で解明されたところによると、全く180度逆転しているという。申請者の見解によると、再生芽の形成は、傷口が水という低張液にさらされることにより、それに敏感な一部の細胞の崩壊が起こり、幼細胞同志の集合を助け、幼細胞だけの再生芽をまずつくる。次に他細胞の移動につれてここに運ばれる幼細胞の二次添加と、幼細胞の分裂により再生芽は成長するという。

以上述べたように、プラナリアの幼細胞を純粋に、かつ多数に培養しえる方法を開発したことと、その観察知見とは、今後の実験形態学に貢献するところが少なくない。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。